

# Mikrosporogenesis Cabai Merah Besar (*Capsicum annuum* L.) Akibat Cekaman Kekeringan

Utaminingsih<sup>1</sup>, Suharyanto<sup>1</sup>, Issirep Sumardi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada

Email: utaminingsih@ugm.ac.id

## Abstract

Chilli is one of high economic vegetable crops that had multi purpose. Some marginal areas in Indonesia have limited water rate. The aims of this research are to know mikrosporogenesis process and physiological responses of big red chilli in drought stress. The stage of this research were: 1) seed germination and acclimatization; 2) treatment of dryness grasp (was watered every 1, 3, 5, and 7 days); 3) sample collection (flower and leaves); 4) anatomical preparation of flower; 5) proline and chlorophyll analysis; 6) pollen viability test; 7) mikrosporogenesis observation; 8) data analyses. Parameters observed in this research were prolin contents, chlorophyll contents, mikrosporogenesis and pollen viability test. The result showed that drought stress treatment in this research did not affect chilli mikrosporogenesis process, but these process begin earlier. Plant responses to drought stress were decreased of proline content of root; decreased of chlorophyll content of leaf; and degradation of pollen viability.

**Key words** : *Capsicum annuum*, chili, drought stress, mikrosporogenesis

## Abstrak

Cabai merupakan salah satu tanaman sayuran bernilai ekonomi tinggi yang memiliki banyak manfaat. Beberapa wilayah marginal di Indonesia memiliki keterbatasan dalam ketersediaan air. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui mikrosporogenesis dan respons fisiologis tanaman cabai merah besar akibat cekaman kekeringan. Tahapan penelitian meliputi : 1) perkecambahan biji dan aklimatisasi; 2) perlakuan cekaman kekeringan (penyiraman setiap 1,3,5,7,hari sekali); 3) pengambilan sampel (bunga dan daun); 4) pembuatan preparat anatomi bunga; 5) analisis prolin dan klorofil; 6) uji viabilitas polen; 7) pengamatan mikrosporogenesis; 8) analisis data. Parameter yang diamati meliputi kadar prolin, kadar klorofil, mikrosporogenesis, dan uji viabilitas polen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa cekaman kekeringan tidak mempengaruhi tahapan mikrosporogenesis, tetapi mikrosporogenesis berlangsung lebih awal daripada tanaman kontrol. Respons tanaman cabai terhadap cekaman kekeringan meliputi penurunan kadar prolin akar, penurunan kadar klorofil daun, dan penurunan viabilitas polen.

**Kata kunci** : *Capsicum annuum*, cabai merah besar, cekaman kekeringan, mikrosporogenesis.

## Pendahuluan

Cabai merupakan salah satu tanaman sayuran yang multiguna. Pada umumnya, cabai dimanfaatkan untuk bahan penyedap berbagai macam masakan, selain itu juga digunakan sebagai bahan baku industri makanan jadi, penghasil minyak atsiri dan bahan ramuan obat tradisional, serta bahan baku kosmetik. Secara sistematis, cabai merupakan anggota suku Solanaceae yang memiliki banyak variasi baik pada tingkat jenis maupun varietas. Saat ini terdapat 12 jenis cabai yang dikenal. Namun yang paling banyak dibudidayakan oleh petani hanya beberapa jenis saja, yaitu cabai merah, cabai rawit, paprika, dan cabai hias. Pada pasar tradisional, cabai yang umum dijual untuk dikonsumsi adalah cabai merah besar (*Capsicum annuum* L. var. *abreviata* Eingerhuth), cabai merah keriting (*Capsicum annuum* L. var. *longum* Sendt) dan cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.).

Produktivitas cabai pada tahun 2010 mengalami penurunan dibandingkan tahun-tahun sebelumnya. Pada tahun 2009, produksi cabai di Indonesia mencapai 1.378.727 ton, sedangkan

pada tahun 2010 mengalami penurunan menjadi 1.332.356 ton (BPS, 2011). Hal tersebut menyebabkan harga cabai melambung tinggi pada tahun 2010. Fluktuasi harga cabai diakibatkan adanya penyakit dan hama. Selain itu, adanya perubahan iklim yang tidak menentu mengakibatkan curah hujan tidak menentu. Tanaman cabai dapat tumbuh baik pada tanah dengan kadar air cukup. Beberapa wilayah di Indonesia, terutama daerah marginal memiliki keterbatasan yaitu kadar air rendah atau kering. Lahan pertanian yang kering akan mengakibatkan fungsi dan pertumbuhan akar terganggu. Akibatnya pertumbuhan tanaman juga ikut terganggu sehingga produksi bunga dan buah akan menurun. Lahan kering di Indonesia berupa tanah Ultisol 47,5 juta ha dan Oxisol 18 juta ha. Indonesia memiliki panjang garis pantai mencapai 106.000 km dengan potensi luas lahan 1.060.000 ha. Berjuta-juta hektar lahan marginal tersebar di beberapa pulau, prospeknya baik untuk pengembangan pertanian, terutama cabai.

Air merupakan komponen utama penyusun sel tumbuhan, mempunyai peranan penting dalam pertumbuhan dan perkembangan (Shao *et al.*,

2008). Pada tumbuhan herba, di dalam selnya terkandung 85-90% air yang merupakan pelarut bagi banyak reaksi biokimia. Laju pertumbuhan sel tanaman dan efisiensi proses fisiologisnya mencapai tingkat tertinggi apabila sel berada pada turgor yang maksimum. Cekaman kekeringan adalah keadaan dimana sel tanaman kehilangan air dan berada pada tekanan turgor yang lebih rendah daripada nilai maksimumnya. Pada keadaan tersebut menyebabkan gangguan metabolisme (Fitter & Hay, 1991).

Perubahan metabolisme yang terjadi akibat cekaman kekeringan akan mempengaruhi perkembangan tanaman, terutama pada proses miksporogenesis dan perkembangan polen. Mikrosporogenesis pada cabai sebelumnya telah diteliti oleh Lengel dan Cochran (1960). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa spesies yang sama dengan varietas berbeda mempunyai perbedaan dalam perkembangan polen. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui proses mikrosporogenesis dan perkembangan polen pada cabai merah besar (*Capsicum annuum* L.).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui proses mikrosporogenesis dan respon fisiologi, biokimia, dan anatomi tanaman cabai merah besar dalam kondisi cekaman kekeringan sehingga dapat digunakan sebagai acuan untuk meningkatkan produktivitas tanaman cabai merah besar.

### Metode Penelitian

Penelitian dilaksanakan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu perlakuan cekaman kekeringan (interval penyiraman/ hari). Perlakuan cekaman kekeringan yang diberikan yaitu disiram setiap hari (kontrol); 3 hari sekali; 5 hari sekali; dan 7 hari sekali. Penyiraman menggunakan air sumur sebanyak 500 ml. Masing-masing perlakuan dilakukan dengan 10 kali ulangan.

Pengambilan sampel bunga menggunakan kriteria dari Erickson dan Markhart (2002) (Tabel 1.). Pembuatan Preparat Anatomi bunga menggunakan metode parafin dengan pewarnaan tunggal (Ruzin, 1999).

Tabel 1. Fase perkembangan bunga cabai merah besar berhubungan dengan perkembangan mikrospora, ukuran kuncup, hari ke antesis pada suhu 25° C

Fase	Karakteristik	Panjang kuncup (mm)	Hari ke-antesis	Fase Mikrosporogenesis
I	Lobus daun kelopak menutup, mahkota tidak terlihat, kuncup berwarna hijau	< 2,5	14-17	Premiosis
II	Lobus daun kelopak mulai memisah	3,0-4,0	Sep-13	Pembentukan tetrad dan pemisahan
III	Pemisahan lebih lanjut dari daun kelopak, mahkota mulai terlihat	4,5-6,5	06-Agt	Mikrospora bebas, muda
IV	Mahkota bunga menonjol	7,0-8,0	03-Mei	Pemasakan mikrospora, penebalan eksin
V	Penonjolan mahkota bunga hampir dua kali panjang kelopak	8,5-11,0	01-Feb	Butir polen mengadakan pembelahan mitosis, eksin tebal dan gelap

Viabilitas polen diestimasi dengan pewarnaan 0,4% *Trypan blue* (Sigma, St Louis, MO, USA). Pada saat antesis, bunga dari masing-masing perlakuan dikoleksi secara acak. Polen ditaburkan pada gelas benda ditambahkan 70 µL *Trypan blue*. Selanjutnya polen diamati menggunakan mikroskop cahaya. Kriteria polen yang viabel adalah berbentuk triangular dan elips dengan dinding eksin yang tebal serta berwarna biru. Jumlah polen yang viabel dan jumlah total polen dalam satu bidang pandang dihitung, kemudian dihitung persentase jumlah polen yang viabel (Erickson & Markhart, 2002).

Pengukuran kadar prolin mengacu pada Bates (1973). Akar tanaman cabai di akhir pengamatan diambil kemudian dibersihkan dan

ditimbang sebanyak 0,5 g. Akar ditumbuk dengan mortar di dalam larutan sulfosalisilat 3% sebanyak 10 ml kemudian disaring dengan kertas saring Whatman no. 1. Selanjutnya filtrat diambil sebanyak 2 ml, dimasukkan dalam tabung reaksi, dan ditambah 2 ml asam Ninhydrin. Asam Ninhydrin dibuat dengan cara memanaskan 1,25 g Ninhydrin dalam 30 ml asam asetat glasial dan 20 ml asam fosforat. Pemanasan dilakukan dalam *waterbath* pada suhu 100 °C hingga larut.

Filtrat dan 2 ml asam Ninhydrin ditambah 2 ml asam asetat glasial kemudian dipanaskan pada suhu 100 °C selama 1 jam. Reaksi diakhiri dengan memasukkan tabung reaksi berisi filtrat ke dalam gelas piala berisi es. Campuran filtrat, Ninhydrin dan asam asetat glasial ditambahkan

toluen 4 ml dan digojog dengan stirer 15-20 detik sehingga terbentuk dua lapisan cairan berwarna tidak sama. Toluena berwarna merah yang mengandung prolin diambil dengan pipet, dimasukkan keuvet, dan dibaca *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 520 nm.

Kadar prolin dihitung dengan cara membuat larutan standar prolin terlebih dahulu, yaitu 2,5 µM larutan induk diencerkan dengan asam sulfosalisilat 3%. Pengenceran dimaksudkan untuk mendapatkan variasi konsentrasi prolin. Selanjutnya larutan direaksikan dengan asam Ninhydrin dan asam asetat glasial, kemudian larutan dimasukkan dalam kuvet dan dibaca *Optical Density* (OD) pada panjang gelombang 520 nm. Hasil absorbansi larutan standar dibuat persamaan regresi linier sehingga diperoleh persamaan :  $Y = ax + b$ . Nilai absorbansi sampel selanjutnya dimasukkan sebagai nilai Y sehingga didapatkan nilai x (µg/mol).

$$\text{Kadar prolin} = \frac{(\mu\text{g/mol prolin} / \text{ml toluen}) / 115,13 \mu\text{g/mol}}{(\text{g sampel} / 5)}$$

= µmol prolin/ g berat segar sampel

Pengukuran kadar klorofil : Daun ke-2 dan ke-3 tanaman cabai diambil pada bagian tengah daun, ibu tulang daun dihilangkan. Daun ditimbang 0,1 g kemudian digerus dengan mortar dan dilarutkan dalam 10 ml aseton 80%. Ekstrak disaring dengan kertas saring Whatman no. 1. Larutan dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup dengan aluminium foil. Selanjutnya larutan dimasukkan dalam kuvet dan *Optical Density* (OD) diukur pada panjang gelombang 646 dan 663 nm. Kadar klorofil dihitung dengan rumus :

$$\text{Klorofil a} = 12,21 (\text{Abs } 663) - 2,81 (\text{Abs } 646) \text{ mg/ liter}$$

$$\text{Klorofil b} = 20,13 (\text{Abs } 646) - 5,03 (\text{Abs } 663) \text{ mg/ liter}$$

$$\text{Total klorofil} = 17,3 (\text{Abs } 646) + 7,18 (\text{Abs } 663) \text{ mg/ liter}$$

Hasil perhitungan dari rumus tersebut kemudian dikonversi ke dalam satuan mg/ g dengan rumus :  $(1/ 100 \times \text{kadar total klorofil}) / 0,1 \text{ mg/g}$ . Kadar klorofil ditentukan menurut metode spektrofotometri (Harborne, 1987).

Data kuantitatif dianalisis menggunakan analisis variansi CRD (*Completely Randomize Design*). Kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) pada tingkat signifikansi 95% untuk menunjukkan pasangan perlakuan yang berbeda nyata. Proses

mikrosporogenesis dianalisis secara deskriptif (kualitatif).

## Hasil dan Pembahasan

### A. Kadar prolin Akar

Senyawa biokimia yang dihasilkan tanaman sebagai respons terhadap kekeringan dan berperan dalam penyesuaian osmotik bervariasi, antara lain gula, asam amino, dan senyawa terlarut yang kompatibel. Senyawa osmotik yang banyak dipelajari pada toleransi tanaman terhadap kekeringan antara lain prolin, asam absisat (ABA), protein dehidrin, total gula, pati, sorbitol, vitamin C, asam organik, asparagin, glisin-betain, serta superoksida dismutase dan  $K^+$  yang bertujuan untuk menurunkan potensial osmotik sel tanpa membatasi fungsi enzim.

Tabel 2. Kadar prolin daun dan akar (µmol prolin/ g berat sampel) cabai merah besar dengan perlakuan interval penyiraman.

Perlakuan (interval penyiraman)	Kadar prolin daun	Kadar prolin akar
Kontrol (setiap hari)	0.38a	0.36a
3 hari sekali	0.40a	0.35a
5 hari sekali	0.39a	0.36a
7 hari sekali	0.40a	0.34a

\*huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak ada beda nyata antar perlakuan

Hasil pengukuran terhadap kadar prolin akar (Tabel 2.) menunjukkan bahwa semakin tinggi interval penyiraman, kadar prolin akar semakin menurun. Hal ini disebabkan prolin terakumulasi di daun, meskipun akar merupakan organ pertama yang mengalami cekaman kekeringan. Prolin berperan penting sebagai osmoregulator. Produk senyawa tersebut secara berlebihan dapat menghasilkan peningkatan toleransi terhadap cekaman kekeringan pada tanaman (Kishor *et al.* 1995; Marjorie *et al.* 2002 dalam Hapsoh *et al.*, 2006).

Metabolisme prolin pada tanaman cabai merah besar dalam kondisi cekaman kekeringan sebelumnya telah diteliti oleh Sayed (1992). Menurut Sayed (1992), terdapat dua enzim yang berperan penting dalam biosintesis prolin, yaitu prolin dehidrogenase dan prolin oksidase. Kedua enzim tersebut dihambat dalam kondisi cekaman; prolin oksidase lebih menghambat di akar daripada di daun. Hal ini berarti bahwa pada tanaman cabai, akumulasi prolin di akar lebih tinggi daripada di daun.

## B. Kadar klorofil daun

Salah satu faktor yang mempengaruhi kadar klorofil suatu tanaman adalah ketersediaan air di sekitar sistem perakaran tanaman. Hasil pengamatan terhadap kadar klorofil menunjukkan bahwa secara keseluruhan kadar klorofil daun cabai merah besar semakin menurun seiring dengan peningkatan cekaman kekeringan. Tanaman kontrol memiliki kadar klorofil tertinggi dibandingkan dengan tanaman yang diperlakukan dengan cekaman kekeringan.

Menurut Fitter & Hay (1991), biosintesis protein dan klorofil sensitif terhadap cekaman kekeringan. Ketersediaan air di sekitar sistem perakaran tanaman mempengaruhi kelarutan

unsur hara di tanah. Pada tanah yang kering, unsur hara cenderung dalam bentuk terikat sehingga sukar diserap oleh akar tanaman. Salah satu unsur yang diperlukan dalam pembentukan klorofil adalah Mg dan Fe. Kondisi tanah yang kering menyebabkan kedua unsur tersebut akan berada dalam bentuk terikat atau tidak tersedia bagi tanaman sehingga kadar klorofil rendah. Selain itu, dalam kondisi cekaman kekeringan, potensial air daun akan menurun, pembentukan klorofil daun akan terganggu dan struktur kloroplas akan mengalami disintegrasi. Kadar klorofil pada berbagai interval penyiraman disajikan pada Tabel 3.

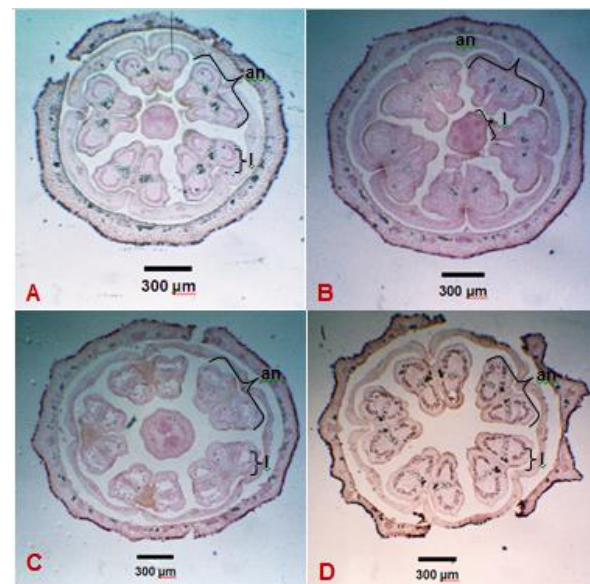
Tabel 3. Kadar klorofil a, klorofil b, dan klorofil total (mg/ g) daun cabai merah besar dengan perlakuan interval penyiraman.

Perlakuan (interval penyiraman)	Kadar klorofil a	Kadar klorofil b	Kadar klorofil total
Kontrol (setiap hari)	1,43±0,024 <sup>b</sup>	0,99±0,043 <sup>a</sup>	2,42±0,066 <sup>b</sup>
3 hari sekali	1,33±0,011 <sup>a</sup>	0,86±0,018 <sup>a</sup>	2,19±0,022 <sup>a</sup>
5 hari sekali	1,34±0,035 <sup>a</sup>	0,90±0,061 <sup>a</sup>	2,24±0,095 <sup>ab</sup>
7 hari sekali	1,29±0,081 <sup>a</sup>	0,79±0,078 <sup>a</sup>	2,08±0,16 <sup>a</sup>

## C. Mikrosporogenesis

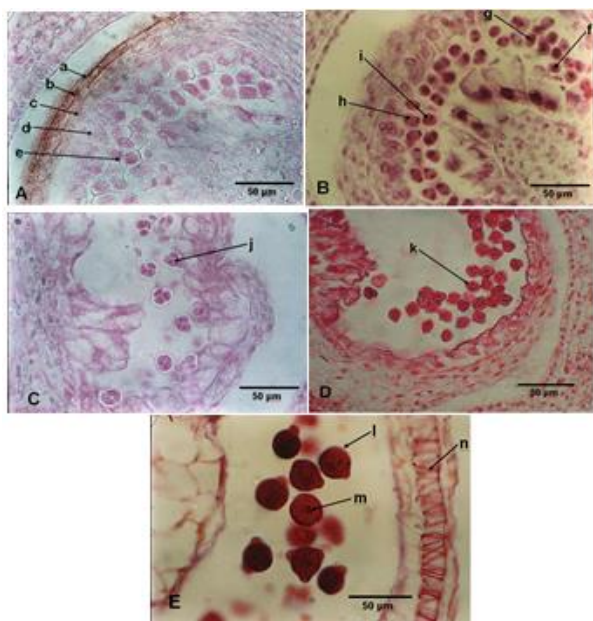
Mikrosporogenesis merupakan proses pembentukan dan perkembangan mikrospora. Mikrosporogenesis diawali dengan pembentukan sel induk mikrospora yang berasal dari jaringan sporogen. Jaringan sporogen dapat berfungsi langsung sebagai sel induk mikrospora atau mengalami beberapa kali pembelahan mitosis sebelum mengalami meiosis. Sel induk mikrospora (sporosit) mengalami pembelahan meiosis, menghasilkan mikrospora yang bersifat haploid. Pada pembelahan meiosis ada dua tingkat pembelahan, yaitu meiosis I dan meiosis II (Bhojwani and Bhatnagar, 1974).

Penampang melintang buah cabai yang berumur 7 HSA pada berbagai perlakuan disajikan pada Gambar 1. Hasil pengamatan terhadap mikrosporogenesis pada cabai merah besar (Gambar 2.) sesuai dengan yang dikemukakan oleh Lengel (1960) bahwa perkembangan polen cabai dimulai dari perkembangan sel induk mikrospora. Sel induk mikrospora secara langsung merupakan diferensiasi dari sel sub hipodermal pada antera. Pada pembelahan meiosis pertama, tidak terbentuk dinding sel diantara anak inti, sedangkan pada pembelahan meiosis kedua terbentuk 4 sel yang menghasilkan tetrad mikrospora yang masing-masing dipisahkan oleh eksin. Kemudian diikuti dengan pembesaran mikrospora, inti sel membelah dan menghasilkan dua inti yang tidak sama.



Gambar 1. Penampang melintang bunga cabai merah besar umur 7 HSA (Hari Sebelum Antesis) pada perlakuan interval penyiraman A. kontrol (setiap hari); B. 3 hari sekali; C. 5 hari sekali; D. 7 hari sekali. Keterangan gambar : an, antera; l,lobi.





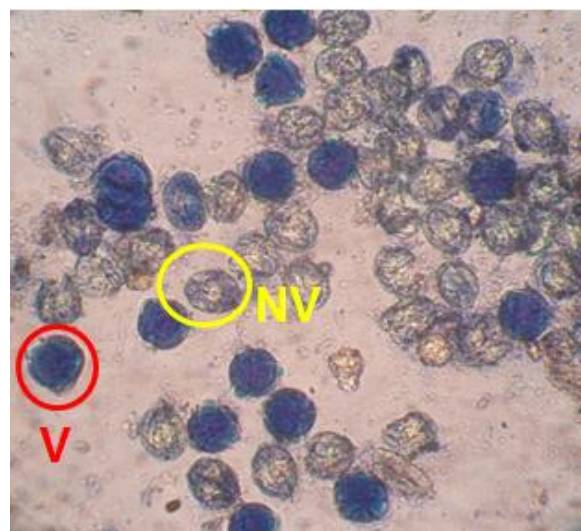
Gambar 2. Tahap-tahap mikrosporogenesis cabai merah besar. A. sel induk mikrospora; B. meiosis sel induk mikrospora; C. tetrad mikrospora; D. mikrospora soliter; E. polen masak. Keterangan : a. eksotesium, b. endotesium, c. lapisan tengah, d. tapetum, e. sel induk mikrospora, f. profase, g. metaphase, h. anaphase, i. telofase, j. tetrad mikrospora, k. mikrospora soliter, l. mikrospora masak dengan dinding tebal, m. inti polen, n. endotesium dengan penebalan dinding.

#### D. Viabilitas Polen

Proses mikrosporogenesis diatur oleh banyak faktor yang meliputi faktor internal dan eksternal. Salah satu faktor internal yang mempengaruhi mikrosporogenesis adalah hormon tumbuhan yaitu auksin dan sitokinin. Adapun faktor eksternal yang mempengaruhi mikrosporogenesis yaitu temperatur, ketersediaan air, cahaya, dan unsur hara dalam tanah. Pengamatan terhadap viabilitas polen disajikan pada Tabel 4. dan Gambar 3.

Tabel 4. Persentase viabilitas polen cabai merah besar dengan perlakuan interval penyiraman.

Perlakuan (interval penyiraman)	Viabilitas polen (%)
Kontrol (setiap hari)	94,48±1,5 <sup>a</sup>
3 hari sekali	84,65±1,8 <sup>b</sup>
5 hari sekali	72,62±1,0 <sup>c</sup>
7 hari sekali	53,71±1,9 <sup>d</sup>



Gambar 3. Polen cabai merah besar. Keterangan : V. viabel, NV. Nonviabel.

Salah satu faktor eksternal yang mempengaruhi mikrosporogenesis adalah ketersediaan air. Ketersediaan air yang terbatas akan menyebabkan tanaman mengalami cekaman yang akan mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan. Nguyen (2008) telah meneliti perkembangan polen pada padi akibat cekaman kekeringan. Nguyen menyebutkan bahwa pada kondisi kekeringan, mikrospora akan mengalami aborsi yang diakibatkan oleh adanya *programmed cell death* (PCD). Cekaman kekeringan akan menginduksi terbentuknya hidrogen peroksida yang akan mempengaruhi DNA sel untuk mengaktifkan PCD. Selain itu, adanya oksidatif stress yang ditimbulkan oleh kondisi cekaman kekeringan menyebabkan tingginya kadar glukosa. Konsentrasi glukosa yang tinggi akan pada tapetum dan lokulus merupakan respon alami terhadap stress oksidatif dan meningkatkan tekanan turgor sel. Kondisi tersebut menyebabkan *tapetal swelling* atau hipertrofi (abnormalitas tapetum/ membengkak). Kondisi tapetum yang abnormal berakibat pada sterilitas polen. Polen yang viabel terlihat berwarna biru dengan pewarna Trypan blue. Pewarna ini akan bereaksi dengan kalosa. Kalosa merupakan karbohidrat yang menyusun dinding mikrospora (Stanley & Linskens, 1974).

#### Simpulan

Tahap – tahap mikrosporogenesis pada tanaman yang mengalami cekaman kekeringan sama dengan tanaman yang tidak mengalami cekaman, tetapi waktunya berlangsung lebih awal. Cekaman kekeringan menyebabkan terjadinya respons fisiologi berupa penurunan kadar prolin akar, penurunan kadar klorofil daun, serta penurunan viabilitas polen.

## Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada tim I-MHERE Fakultas Biologi UGM yang telah mendanai penelitian ini.

## Daftar Referensi

- Badan Pusat Statistik, 2011. Luas Panen, Produksi dan Produktivitas Cabai 2009-2010. Diterima 12 Januari 2012, dari [http : www.bps.go.id](http://www.bps.go.id)
- Bates, L.S., 1973. Rapid Determination of Free Proline for Water-Stress Studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Bhojwani, S. S. & S. P. Bhatnagar, 1974. The Embryology of Angiosperm. Vikas Publishing House PVT LTD, New Delhi. 9-27 pp.
- Erickson, A.N, & A. H. Markhart, 2002. Flower Developmental Stage and Organ Sensitivity of Bell Pepper (*Capsicum annuum* L.) to Elevated Temperature. *Plant, cell and Environmen*, 25 : 123-130.
- Fitter, A.H & R.K.M. Hay, 1991. Fisiologi Lingkungan Tanaman, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Yahya, S., Oelim, T. M. H., & Purwoko, B. S. 2006. Respons fisiologi beberapa genotipe kedelai yang bersimbiosis dengan MVA terhadap berbagai tingkat cekaman kekeringan. *HAYATI Journal of Biosciences*, 13(2), 43-48.
- Harborne, J. B., 1987. *Metode Fitokimia : penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Diterjemahkan oleh : K. Padmawinata & I. Soediro. Cetakan ke-2. Penerbit ITB. Bandung, hal : 234 – 244.
- Lengel, P. A., 1960. Development of the Pollen and the Embryo Sac in *Capsicum frutescens* L. var. Japanese Variegated Ornamental. *The Ohio Journal of Science*, 60 : 8.
- Nguyen, G. N., 2008. Effect of Water Deficit on Pollen Development in Rice, *Thesis for the degree of Doctor of Philosophy*. The University of Sydney.
- Ruzin, S. E., 1999. Plant Microtechnique and Microscopy. Oxford University Press, Inc. p: 61-65.
- Sayed, H. E. 1992. Proline Metabolism During Water Stress in Sweet Pepper (*Capsicum annuum* L.) *Plant. Phytom* (Horn, Austria) Vol. 32 (2) : 255-261.
- Shao, H. B., Chu, L. Y., Jaleel, C. A., & Zhao, C. X. 2008. Water-deficit stress-induced anatomical changes in higher plants. *Comptes rendus biologiques*, 331(3), 215-225.
- Stanley, R. G. & H. F. Linskens. 1974. Pollen: biology, biochemistry, and Management. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. New York. p: 81.